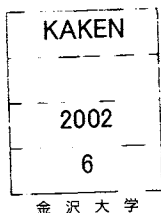


肝障害の遷延化に関与する因子の検索に基づく、慢性肝障害の新規の早期診断法の開発

著者	向田 直史
著者別表示	Mukaida Naofumi
雑誌名	平成14(2002)年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 研究成果報告書
巻	1999-2002
ページ	10p.
発行年	2003-03
URL	http://doi.org/10.24517/00050572





肝障害の遷延化に関与する因子の検索に基づき、慢性肝障害の新規の早期診断法の開発

(研究課題番号 11470516)

平成 11 年度～平成 14 年度科学研究費補助金(基盤研究 (B) (2))研究成果報告書

平成 15 年 3 月

研究代表者 向田 直史
(金沢大学・がん研究所・教授)

金沢大学附属図書館



0300-02111-9

はしがき

感染・外傷を始めとする、生体への侵襲に対して、生体の防御反応として炎症反応が生じ、組織障害が修復される。しかし、炎症反応の制御は不適切な場合には、炎症は遷延化して、その結果臓器の機能不全をきたす。肝臓において慢性炎症反応が起きると、細胞外間質の異常増生による線維化が起きる。線維化が進行すると、最終的には現在でも難治である肝硬変・肝癌へと移行する。したがって、肝臓での炎症の遷延化過程を分子病理学的に検討して、遷延化に関与している分子を同定することは、現在でも難治である肝硬変・肝癌の治療法・予防法の開発にも繋がることが期待される。

肝臓での炎症の遷延化過程に特に焦点を当て、種々のマウス肝障害モデルの分子病理学的機構を明らかにするとともに、遷延化過程に関与している内因性因子を同定することを目的に、本研究を立案した。

研究組織

研究代表者：向田 直史（金沢大学・がん研究所・教授）

交付決定額

（金額単位： 千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 11 年度	3,700	0	3,700
平成 12 年度	5,200	0	5,200
平成 13 年度	2,600	0	2,600
平成 14 年度	2,700	0	2,700
総計	14,200	0	14,200

研究発表

(1) 学会誌など

1. Tsuji, H., Mukaida, N., Harada, A., Kaneko, S., Matsushita, E., Nakanuma, Y., Tsutsui, H., Okamura, H., Nakanishi, K., Tagawa, Y., Iwakura, Y., Kobayashi, K., and Matsushima, K. : Alleviation of lipopolysaccharide-induced acute liver injury in *Propionibacterium acnes*-primed IFN- γ -deficient mice by a concomitant reduction of TNF- α , IL-12, and IL-18 production. *J. Immunol.* 162: 1049-1055, 1999.
2. Nokihara, H., Nishioka, Y., Yano, S., Mukaida, N., Matsushima, K., Tsuruo, T., and Sone, S. : Monocyte chemoattractant protein-1 gene modification of multidrug-resistant human lung cancer enhances antimetastatic effect of therapy with anti-P-glycoprotein antibody in SCID mice. *Int. J. Cancer* 80: 773-780, 1999.
3. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Shimizu, M., Segawa, C., Kobayashi, K., Mukaida, N., Kasahara, T., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Eotaxin contributes to renal interstitial eosinophilia. *Nephrol Dial Transplant* 14: 76-80, 1999.
4. Vig, E., Green, M., Liu, Y., Donner, D.B., Mukaida, N., Goebel, M.G., and Harrington, M.A. : Modulation of tumor necrosis factor and interleukin-1-dependent NF- κ B activity by mPLK/IRAK. *J. Biol. Chem.* 274: 13077-13084, 1999.
5. Hsu, M.H., Wang, M., Browning, D.D., Mukaida, N., and Ye, R.D. : NF- κ B activation is required for C5a-induced IL-8 gene expression in mononuclear cells. *Blood* 93: 3241-3249, 1999.
6. Masamune, A., Shimosegawa, T., Masamune, O., Mukaida, N., Koizumi, M., and Toyota, T. : Helicobacter pylori-dependent ceramide production may mediate increased interleukin 8 expression in human gastric cancer cell lines. *Gastroenterology* 116: 1330-1341, 1999.
7. Ebe, Y., Hasegawa, G., Takatsuka, H., Umezu, H., Watanabe, H., Mitsuyama, M., Arakawa, M., Mukaida, N., Matsushima, K., and Naito, M. : The role of Kupffer cells and regulation of neutrophil migration into the liver by macrophage inflammatory protein-2 in primary listeriosis in mice. *Pathol. Int.* 49: 519-532, 1999.
8. Ondrey, F., Dong, G., Sunwoo, J., Chen, Z., Wolf, J.S., Crowl-Bancroft, C.V., Mukaida, N., and Van Waes, C. : Constitutive activation of transcription factors NF- κ B, AP-1 and NF-IL6 in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines that express proinflammatory and proangiogenic cytokines. *Molec. Carcinogenesis* 26: 119-129, 1999.
9. Natsume, M., Tsuji, H., Harada, A., Akiyama, M., Yano, T., Ishikura, H., Nakaishi, I., Matsushima, K., Kaneko, S.-i., and Mukaida, N. : Attenuated liver fibrosis and depressed serum albumin levels in carbon tetrachloride-treated IL-6-deficient mice. *J. Leukocyte Biol.* 66: 601-608, 1999.
10. Kitadai, Y., Takahashi, Y., Haruma, K., Naka, K., Sumii, K., Yokozaki, H., Yasui, W., Ohmoto, Y., Mukaida, N., Kajiyama, G., Fidler, I.J., and Tahara, E. : Transfection of interleukin-8 gene increases angiogenesis and tumorigenicity of human gastric carcinoma cells in nude mice. *Br. J. Cancer* 81: 647-653, 1999.
11. Fujimura, M., Myou, S., Nomura, M., Mizuguchi, M., Matsuda, T., Harada, A., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Interleukin-8 inhalation directly provokes bronchospasm in guinea pigs. *Allergy* 54: 386-391, 1999.
12. Verma, M., Mukaida, N., Vollmer-Conna, U., Matsushima, K., Lloyd, A., and Wakefield, D. : Endotoxin-induced uveitis is partially inhibited by anti-IL-8 antibody treatment. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40: 2465-247-, 1999.
13. Xu, L., Xie, K., Mukaida, N., Matsushima, K., and Fidler, I.J. : Hypoxia-induced elevation in interleukin-8 expression by human ovarian cancer carcinoma cells. *Cancer Res.* 59: 5822-5829, 1999.
14. Takahashi, Y., Kasahara, T., Sawai, T., Rikimaru, A., Mukaida, N., Matsushima, K., and Sasaki, T. : The participation of IL-8 in the synovial lesions at an early stage of rheumatoid arthritis. *Tohoku J. Exp. Med.* 188: 75-87, 1999.

15. Wada, T., Furuichi, K., Segawa, C., Shimizu, M., Sakai, N., Takeda, S.-i., Takasawa, K., Kida, H., Kobayashi, K.-i., Mukaida, N., Ohmoto, Y., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : MIP-1 α and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions via the cognate chemokine receptor in human crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 56: 995-1003, 1999.
16. Mori, N., Oishi, K., Sar, B., Mukaida, N., Nagatake, T., Matsushima, K., and Yamamoto, N. : Essential role of transcription factor nuclear factor- κ B in regulation of interleukin-8 gene expression by nitrite reductase from *Pseudomonas aeruginosa* in respiratory epithelial cells. *Infect. Immun.* 67: 3872-3878, 1999.
17. Kunz, M., Hartmann, A., Flory, E., Toksoy, A., Koczan, D., Thiesen, H.-J., Mukaida, N., Neumann, M., Rapp, U.R., Broecker, E.-B., and Gillitzer, R. : Anoxia-induced up-regulation of Interleukin-8 in human malignant melanoma. A potential mechanism for high tumor aggressiveness. *Am. J. Pathol.* 155:753-763,1999.
18. Shi, Q., Le, X., Abbruzzese, J.L., Wang, B., Mukaida, N., Matsushima, K., Huang, S., Xiong, Q., and Xie, K. : Cooperation between transcription factor AP-1 and NF- κ B in the induction of interleukin-8 in human pancreatic adenocarcinoma cells by hypoxia. *J. Interferon Cytokine Res.* 19: 1363-1371, 1999.
19. Mukaida, N. : Interleukin-8: an expanding universe beyond neutrophil chemotaxis and activation. *Int. J. Hematol.* 72: 391-398, 2000.
20. Ato, M., Iwabuchi, K., Matsui, N., Mukaida, N., Iwabuchi, C., Takahashi, A., Takayanagi, T., Dongdog, E.-M., Hatakeyama, S., Ishikura, H., Kato, M., Negishi, I., Nishihori, H., Watano, K., Ogasawara, K., Matsushima, K., Onoe, K. : Delayed clearance of zymogen-induced granuloma and depressed phagocytosis of macrophages with concomitant up-regulated kinase activities of src-family in a human monocyte chemoattractant protein-1 transgenic mouse. *Immunobiology* 201: 432-449, 2000.
21. Abe, S., Nakamura, H., Inoue, S., Takeda, H., Saito, H., Kato, S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Tomoike, H. : Interleukin-8 gene repression by clarithromycin by AP-1 binding site in human bronchial epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell. Molec. Biol.* 22: 51-60, 2000.
22. Lee, L.F., Hellendall, R.P., Wang, Y., Haskill, J.S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Ting, J.P. : IL-8 reduced tumorigenicity of human ovarian cancer in vivo due to neutrophil infiltration. *J. Immunol.* 164: 2769-2775, 2000.
23. Nishihori, H., Tsuji, H., Wang, H., Tahara, H., Akiyama, M., Ogawa, Y., Matsushima, K., Iwakura, Y., and Mukaida, N. : Participation of endogenously produced interferon γ in interleukin-4-mediated tumor rejection. *Hum. Gene Therapy* 11: 659-668, 2000.
24. Amano, H., Yamamoto, H., Senba, M., Oishi, K., Suzuki, S., Fukushima, K., Mukaida, N., Matsushima, K., Eguchi, K., and Nagatake, T. : Impairment of endotoxin-induced macrophage inflammatory protein 2 gene expression in alveolar macrophages in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Infect. Immun.* 68: 2925-2929, 2000.
25. Ueno, M., Sonoda, Y., Funakoshi, M., Mukaida, N., Nose, K., and Kasahara, T. : Differential induction of JE/MCP-1 in subclones from a murine macrophage cell line, RAW 254.7: Role of κ B-3 binding protein. *Cytokine* 12: 203-219, 2000.
26. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Iwata, Y., Yoshimoto, K., Shimizu, M., Kobayashi, K.I., Mukaida, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : A new anti-inflammatory compound, FR167653, ameliorates crescentic glomerulonephritis in Wistar-Kyoto rats. *J. Am. Soc. Nephrol.* 11: 1534-1541, 2000.
27. Kitadai, Y., Haruma, K., Mukaida, N., Ohmoto, Y., Matsutani, N., Yasui, W., Yamamoto, S., Sumii, K., Kajiyama, G., Fidler, I.J., and Tahara, E. : Regulation of disease-progression genes in human gastric carcinoma cells by interleukin 8. *Clin. Cancer Res.* 6: 2735-2740, 2000.
28. Furuichi, K., Wada, T., Sakai, N., Iwata, Y., Yoshimoto, K., Shimizu, M., Kobayashi, K.I., Takasawa, K., Kida, H., Takeda, S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Distinct expression of CCR1 and CCR5 in glomerular and interstitial lesions of human glomerular diseases. *Am J. Nephrol.* 20: 291-299, 2000.
29. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Iwata, Y., Yoshimoto, K., Shimizu, M., Takeda, S.I., Takasawa, K., Yoshimura, M., Kida, H., Kobayashi, K.I., Mukaida, N., Naito, T., Matsushima, K., and Yokoyama, H. :

- Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 58: 1492-1499, 2000.
30. Ostergaard, C., Yieng-Kow, R.V., Larsen, C.G., Mukaida, N., Matsushima, K., Benfield, T., Frimont-Moller, N., Espersen, F., Kharazmi, A., and Lundgren, J.D. : Treatment with a monoclonal antibody to IL-8 attenuates the pleocytosis in experimental pneumococcal meningitis in rabbits when given intravenously, but not intracisternally. *Clin. Exp. Immunol.* 122: 207-211, 2000.
 31. Iguchi, A., Kitajima, I., Yamakuchi, M., Ueno, S., Aikou, T., Kubo, T., Matsushima, K., Mukaida, N., and Maruyama, I. : PEA3 and AP-1 are required for constitutive IL-8 gene expression in hepatoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279: 166-171, 2000.
 32. Murayama, T., Mukaida, N., Sadanari, H., Yamaguchi, N., Khabar, K.S., Tanaka, J., Matsushima, K., Mori, S., and Eizuru, Y. : The immediate early gene 1 product of human cytomegalovirus is sufficient for up-regulation of interleukin-8 gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279: 298-304, 2000.
 33. Nokihara, H., Yanagawa, H., Nishioka, Y., Yano, S., Mukaida, N., Matsushima, K., and Sone, S. : Natural killer cell-dependent suppression of systemic spread of human lung adenocarcinoma cells by monocyte chemoattractant protein-1 gene transfection in severe combined immunodeficient mice. *Cancer Res.* 60: 7002-7007, 2000.
 34. Jiang, S., Naito, M., Kaizu, C., Kuwata, K., Hasegawa, G., Mukaida, N., and Shultz, L.D. : Lipopolysaccharide-induced cytokine and receptor expression and neutrophil infiltration in the liver of osteopetrosis (op/op) mutant mice. *Liver.* 20: 465-474, 2000.
 35. Nakafani, T., Kaburagi, Y., Shimada, Y., Inaoki, M., Takehara, K., Mukaida, N., and Sato, S. : CCR4 memory CD4 T lymphocytes are increased in peripheral blood and lesional skin from patients with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 107: 353-358, 2001.
 36. Shinohara, T., Miki, T., Nishimura, N., Nokihara, H., Hamada, H., Mukaida, N., and Sone, S. : Nuclear factor- κ B-dependent expression of metastasis suppressor KAI1/CD82 gene in lung cancer cell lines expressing mutant p53. *Cancer Res.* 61: 673-678, 2001.
 37. Polyak, S. J., Khabar, K.S.A., Paschal, D.M., Ezelle, H.J., Duverlei, G., Barber, G.N., Levy, D.E., Mukaida, N., and Gretch, D.R. : Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J. Virol.* 75: 6095-6106, 2001.
 38. Zhang, X., Wang, J.M., Gong, W.H., Mukaida, N., and Young, H.A. : Differential regulation of chemokine gene expression by 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ prostaglandin J₂. *J. Immunol.* 166: 7104-7111, 2001.
 39. Smith, R.S., Fedyk, E.R., Springer, T.A., Mukaida, N., Iglewski, B.H., and Phipps, R.P. : IL-8 production in human lung fibroblasts and epithelial cells activated by the *Pseudomonas* autoinducer N-3-oxododecanoyl homoserine lactone is transcriptionally regulated by NF- κ B and activator protein-2. *J. Immunol.* 167: 366-374, 2001.
 40. Wolf, J.S., Chen, Z., Dong, G., Sunwoo, J.B., Bancroft, C.C., Capo, D.E., Yeh, N.T., Mukaida, N., and Van Waes, C. : IL(interleukin)-1 α promotes nuclear factor- κ B and AP-1-induced IL-8 expression, cell survival, and proliferation in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 7: 1812-1820, 2001.
 41. de Wynter, E.A., Heyworth, C.M., Mukaida, N., Matsushima, K. and Yesta, N.G. : NOD/SCID repopulating cells but not LTC-IC are enriched in human CD34⁺ cells expressing the CCR1 chemokine receptor. *Leukemia* 15: 1092-1101, 2001.
 42. Hiraoka, S., Miyazaki, Y., Kitamura, S., Toyota, M., Kiyohara, T., Shinomura, Y., Mukaida, N., and Matsuzawa, Y. : Gastrin induces CXC chemokine expression in gastric epithelial cells through activation of NF- κ B. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 281(3): G735-G742, 2001.
 43. de Wynter, E.A., Heyworth, C.M., Mukaida, N., Jaworska, E., Weffort-Santos, A., Matsushima, K., Testa, N.G. : CCR1 chemokine receptor expression isolates erythroid from granulocyte-macrophage progenitors. *J. Leukoc. Biol.* 70(3): 455-460, 2001.

44. Sakai, Y., Kaneko, S., Nakamoto, Y., Kagaya, T., Mukaida, N., and Kobayashi, K. : Enhanced anti-tumor effects of herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir system by codelivering monocyte chemoattractant protein-1 in hepatocellular carcinoma. *Cancer Gene Ther.* 8: 695-704, 2001.
45. Satoh, S., Oishi, K., Iwagaki, A., Senba, M., Akaike, T., Akiyama, M., Mukaida, N., Atsushima, K.M., and Nagatake, T. : Dexamethasone impairs pulmonary defence against *Pseudomonas aeruginosa* through suppressing iNOS gene expression and peroxynitrite production in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 126: 266-273, 2001.
46. Wada, T., Furuichi, K., Sakai, N., Hisada, Y., Kobayashi, K., Mukaida, N., Tomosugi, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase followed by chemokine expression in crescentic glomerulonephritis. *Am. J. Kidney Dis.* 38: 1169-1177, 2001.
47. Furuichi, K., Wada, T., Iwata, Y., Sakai, N., Yoshimoto, K., Kobayashi, K., Mukaida, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : Administration of FR167653, a new anti-inflammatory compound, prevents renal ischaemia/reperfusion injury in mice. *Nephrol. Dial. Transplant.* 17: 399-407, 2002.
48. Kitamura, K., Nakamoto, Y., Akiyama, M., Fujii, C., Kondo, T., Kobayashi, K., Kaneko, S., and Mukaida, N. : Pathogenic roles of tumor necrosis factor receptor p55-mediated signals in dimethylnitrosamine-induced murine liver fibrosis. *Lab. Invest.* 82: 571-583, 2002.
49. Mori, N., Kondo, T., Ohshima, T., Ishida Y., and Mukaida, N.: Accelerated wound healing in tumor necrosis factor receptor p55-deficient mice with reduced leukocyte infiltration. *FASEB J.* 16: 963-974, 2002.
50. Ishida, Y., Kondo, T., Ohshima, T., Fujiwara, H., Iwakura, Y., and Mukaida, N. : A pivotal involvement of IFN- γ in the pathogenesis of acetaminophen-induced acute liver injury. *FASEB J.* 16: 1227-1236, 2002.
51. Sakai, N., Wada, T., Furuichi, K., Iwata, Y., Yoshimoto, K., Kitagawa, K., Kokubo, S., Kobayashi, M., Takeda, S., Kida, H., Kobayashi, K., Mukaida, N., Matsushima, K., and Yokoyama, H. : p38 MAPK phosphorylation and NF- κ B activation in human crescentic glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 17: 998-1004, 2002.
52. Jung, Y.D., Fan, F., McConkey, D.J., Jean, M.E., Liu, W., Reinmuth, N., Stoeltzing, O., Ahmad, S.A., Parikh, A.A., Mukaida, N., and Ellis, L.M. Role of P38 MAPK, AP-1, and NF- κ B in interleukin-1 β -induced IL-8 expression in human vascular smooth muscle cells. *Cytokine* 18: 206-213, 2002.
53. Ato, M., Iwabuchi, K., Shimada, S., Mukaida, N., and Onoe, K. Augmented expression of tumour necrosis factor- α induced by lipopolysaccharide in spleen of human monocyte chemoattractant protein-1 transgenic mouse enhances the lipopolysaccharide sensitivity of the marginal zone macrophages. *Immunology* 106: 554-563, 2002.
54. Ohta, M., Kitadai, Y., Tanaka, S., Yoshihara, M., Yasui, W., Mukaida, N., Haruma, K., and Chayama, K. : Monocyte chemattractant protein-1 (MCP-1) expression correlates with macrophage infiltration and tumor vascularity in human esophageal squamous cell carcinomas. *Int. J. Cancer* 102: 220-224, 2002.
55. Kitakata, H., Nemoto-Sasaki, Y., Takahashi, Y., Kondo, T., Mai, M., and Mukaida, N. : Essential roles of tumor necrosis factor receptor p55 in liver metastasis of intrasplenic administration of colon 26 cells. *Cancer Res.* 62 : 6682-6687, 2002.
56. Fujii, H., Hasegawa, M., Takehara, K., Mukaida, N., and Sato S. : Abnormal expression of intracellular cytokines and chemokine receptors in peripheral blood T lymphocytes from patients with systemic sclerosis. *Clin. Exp. Immunol.* 130 : 548-556, 2002.
57. Ohya, J.Y., Matsuoka, H., Mukaida, N., Kasahara, T., and Ishii, A. : Growth inhibition of *Plasmodium falciparum* and interleukin-8 production by peripheral blood mononuclear and polymorphonuclear cells *in vitro*. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 30: 351-355, 2002.
58. Mukaida, N. : The pathophysiologic roles of interleukin (IL)-8/CXCL8 in pulmonary diseases. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Molec. Physiol.* 284: L566-L577, 2003.
59. Wang, H., Nemoto-Sasaki, Y., Kondo, T., Akiyama, M., and Mukaida, N. : Potential involvement of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1/CCL2 in IL-4-mediated tumor immunity through inducing dendritic cell migration into the draining lymph nodes. *Int. Immunopharmacol.* (in press).

60. Kim, H., Seo, J.Y., Lim, J.W., Mukaida, N., and Kim, K.H. : *Helicobacter pylori*-induced IL-8 expression in AGS cells: mediation by NF- κ B and AP-1. *Dig. Dis. Sci.* 48: 257-265, 2003.
61. Tsuchiyama, T., Kaneko, S., Nakamoto, Y., Sakai, Y., Honda, M., Mukaida, N., and Kobayashi, K. : Enhanced anti-tumor effects of a bicistronic adenovirus vector expressing both herpes simplex virus thymidine kinase and monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. *Cancer Gene Ther.* (in press).
62. Furuichi, K., Wada, T., Iwata, Y., Kitagawa, K., Kobayashi, K., Hashimoto, H., Ishiwata, Y., Tomosugi, N., Mukaida, N., Matsushima, K., Egashira, K., and Yokoyama, H. : Gene therapy expressing amino-terminal truncated monocyte chemoattractant protein-1 prevents renal ischemia-reperfusion injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* (in press).
63. Lu, P., Nakamoto, Y., Nemoto-Sasakai, Y., Fujii, C., Wang, H., Hashii, M., Ohmoto, Y., Kaneko, S., Kobayashi, K., and Mukaida, N. : Potential interaction between CCR1 and its ligand, CCL3, induced by endogenously produced interleukin-1, in human hepatomas. *Am. J. Pathol.* 162: 1249-1258, 2003..
64. Popivanova, B., Koike, K., Tonchev, A.B., Ishida, Y., Kondo, T., Ogawa, S., Mukaida, N., Inoue, M., and Yamashita, T. : Accumulation of microglial cells expressing ELR motif-positive CXC chemokines and their receptor CXCR2 in monkey hippocampus after ischemia-reperfusion. *Brain Res.* (in press).
65. Lin, Z.-Q., Kondo, T., Ishida, Y., Takayasu, T., and Mukaida, N. : Essential involvement of IL-6 in skin wound healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6-deficient mice. *J. Leukocyte Biol.* (in press).
66. Inaoki, M., Sato, F., Shirasaki, F., Mukaida, N., and Takehara, K. : The frequency of type 2 CD8+ T cells is increased in peripheral blood from patients with psoriasis vulgaris. *J. Clin. Immunol.* (in press).
67. Kuwada, Y., Sasaki, T., Morinaka, K., Kitadai, Y., Mukaida, N., and Chayama, K. : Potential involvement of IL-8 and its receptors in the invasiveness of pancreatic cancer cells. *Int. J. Oncol.* 22(4):765-771, 2003.
68. Ohta, M., Kitadai, Y., Tanaka, S., Yoshihara, M., Yasui, W., Mukaida, N., Haruma, K., and Chayama, K. Monocyte chemoattractant protein-1 expression correlates with macrophage infiltration and tumor vascularity in human gastric carcinomas. *Int. J. Oncol.* 22(4): 773-778, 2003.

(1, 9, 48, 50, 55, 63の本文を収録している)

(2) 口頭発表

1. Mukaida, N., Wang, H., and Nishihori, H. : Enhanced expression of chemokine genes at draining lymph nodes of mice inoculated with IL-4-gene transfected cells. 15th International Congress of Society for Leukocyte Biology. Sep. 22-26, 1999, Cambridge, UK.
2. 向田直史、王暉、西堀宗樹: IL-4遺伝子導入による腫瘍拒絶反応へのケモカインの関与についての検討。第58回日本癌学会総会。1999年9月30日、広島。
3. 向田直史: 受容体と疾患—免疫・アレルギーの立場から (サイトカイン・レセプターと中心に)。第46回日本臨床病理学会総会、シンポジウム「受容体と疾患」、1999年11月11日、熊本。
4. Wang, H., Nishihori, H., and Mukaida, N. : Potential roles of chemokine expressed in draining lymph node, in interleukin (IL)-4-mediated tumor rejection. 9th International Symposium on Molecular and Cell Biology of Macrophages. Jun. 5 and 6, 2000, Kyoto.
5. Mukaida, N., Sasaki, Y., and Wang, H. : Potential roles of monocyte chemoattractant protein (MAP)-1 expressed in draining lymph nodes, in interleukin-4-mediated tumor rejection. 3rd Joint Meeting of the Intl. Cytokine Society and Intl. Society of Interferon and Cytokine Research. Nov. 5 to 9, 2000, Amsterdam, Netherland.
6. 向田直史、秋山万里子、中本安成、金子周一: 実験的肝線維症モデルにおける腫瘍壊死因子 (TNF- α) の役割の解析。第21回日本炎症学会。2000年7月4日～5日、東京。

7. 田村純子、倉島一喜、藤村政樹、中尾真二、向田直史：卵白アルブミン（OVA）感作による喘息モデルにおけるIL-6の役割の解析。第30回日本免疫学会総会・学術集会。2000年11月14日～16日、仙台。
8. Wang, H., Sasaki, Y., and Mukaida, N. : Potential roles of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 in interleukin-4-mediated tumor rejection. 第30回日本免疫学会総会・学術集会。2000年11月14日～16日、仙台。
9. Mori, R., Kondo, T., Ishida, Y., Mukaida, N., and Ohshima T. : Accelerated wound healing in TNF receptor p55 deficient mice with reduced leukocyte infiltration. Joint Meeting of the Society for Leukocyte Biology and Intl. Cytokine Society. Nov. 8-11, 2001, Maui, USA.
10. Mukaida, N., Qiu, Z., Tamura, J., and Kurashima, K. : Dual roles of IL-6 in airway hypersensitivity suggested by enhanced mucous secretion and reduced inflammatory cell infiltration in ovalbumin-challenged IL-6-deficient mice. Joint Meeting of the Society for Leukocyte Biology and Intl. Cytokine Society. Nov. 8-11, 2001, Maui, USA.
11. 北方秀一、佐々木洋子、高橋豊、磨伊正義、向田直史：TNFRp55ノックアウトマウスを用いた肝転移抑制モデルの検討。第10回日本がん転移学会総会。2001年6月14日～15日、徳島。
12. 向田直史、王暉、佐々木洋子：インターロイキン4遺伝子導入による腫瘍拒絶反応へのケモカイン、単球走化因子（MCP-1）の関与。第5回基盤的癌免疫研究会総会。2001年7月18日～19日、津。
13. 橋良哉、中本安成、金子周一、向田直史、小林健一：C型慢性肝疾患の進展と血清中ケモカインに関する検討。第60回日本癌学会総会。2001年9月26日～28日、東京。
14. 土山智也、金子周一、酒井佳夫、本多政夫、向田直史、小林健一：自殺遺伝子と単球走化活性化因子を用いたbicistronicアデノウイルスベクターによる肝癌の免疫遺伝子治療。第60回日本癌学会総会。2001年9月26日～28日、東京。
15. 北方秀一、佐々木洋子、高橋豊、磨伊正義、向田直史：TNFRp55ノックアウトマウスにおける肝転移減少に関する検討。第60回日本癌学会総会。2001年9月26日～28日、東京。
16. 加賀谷尚史、金子周一、中本安成、酒井佳夫、向田直史、小林健一：ケモカインMCP-1及び補助刺激分子B7-1を用いた大腸癌自殺遺伝子治療の増強効果。第60回日本癌学会総会。2001年9月26日～28日、東京。
17. 稲沖真、佐藤伸一、向田直史：乾癬患者の末梢血と病変皮膚におけるCCR4+CD8+メモリーT細胞の増加。第31回日本免疫学会総会・学術集会。2001年12月11日～13日、大阪。
18. 北村和哉、秋山万里子、中本安成、金子周一、小林健一、向田直史：ジメチルニトロサミン（DMN）誘発マウス肝線維症モデルにおけるTNFレセプター（TNFR）p55の役割。第31回日本免疫学会総会・学術集会。2001年12月11日～13日、大阪。
19. 向田直史、近藤稔和、北村和哉：アセトアミノフェンによる急性肝障害におけるインターフェロン γ の役割。第31回日本免疫学会総会・学術集会。2001年12月11日～13日、大阪。
20. Mukaida, N., Kitamura, K., Nakamoto, Y., Kaneko, S., Kobayashi, K. : Potential roles of chemokines and their receptors in the development of colitis in SCID mice reconstituted with CD4⁺CD45RB^{bright} lymphocytes. Gordon Research Conference on Chemotactic Cytokines. Mount Holyoke College, MA, USA, July 7 to 12, 2002.
21. 藤井 千文、中本 安成、陸 培栄、金子 周一、小林 健一、向田 直史：マウス慢性肝障害モデルにおける遺伝子発現パターンの包括的解析。第61回日本癌学会総会。東京。2002年10月1日～3日。
22. 北方 秀一、佐々木 洋子、高橋 豊、磨伊 正義、向田 直史：肝転移過程におけるTNFレセプターp55の役割。第61回日本癌学会総会。東京。2002年10月1日～3日。
23. 土山 智也、金子 周一、中本 安成、酒井 佳夫、向田 直史、小林 健一：自殺遺伝子と単球走化因子を同時に発現するadenovirus vectorによる肝癌遺伝子治療の可能性。第61回日本癌学会総会。東京。2002年10月1日～3日。
24. 中村 充宏、向田 直史、京 哲、毎田 佳子、谷田部 典之、金谷 太郎、田中 政彰、井上 正樹：ケモカイン、単球走化因子(MCP-1)遺伝子導入による抗癌剤の抗腫瘍効果の増強。第61回日本癌学会総会。東京。2002年10月1日～3日。

25. Lu, P., Nakamoto, Y., Nemoto-Sasaki, Y., Wang, H., Kaneko, S., Kobayashi, K., Mukaida, N. : Possible pathological roles of functional CCR1 expressed on human hepatomas. 第32回日本免疫学会総会・学術集会。東京。2002年12月4日～6日。
26. 北村和哉、中本安成、金子周一、小林健一、向田直史：CD4陽性CD45RB強陽性リンパ球移入によって発症する炎症性腸疾患モデルにおける、ケモカインの動態に関する解析。第32回日本免疫学会総会・学術集会。東京。2002年12月4日～6日。
27. 近藤稔和、石田裕子、向田直史：アセトアミノフェン肝障害におけるI型TNFレセプターの役割。第32回日本免疫学会総会・学術集会。東京。2002年12月4日～6日。
28. 向田直史、近藤稔和、森亮一、石田裕子：皮膚損傷治癒過程におけるIFN- γ の生物学的役割。第32回日本免疫学会総会・学術集会。東京。2002年12月4日～6日。

3) 出版物

1. Khabar, K.S.A., Murayama, T., al-Ahdal, M.N., Mukaida, N., and Matsushima, K. : Interleukin-8 (IL-8) is induced by viruses, enhances cytomegalovirus and picornavirus replication and inhibits the antiviral action of interferon- α . In *Advances in Animal Virology* (Jameel, S., and Villarreal, L. eds.), Science Publisher Inc., Enfield, USA, pp. 323-335, 2000.
2. 向田直史：免疫系。「標準薬理学」第6版。(鹿取信監修、今井正・宮本英七編集) pp401-415、医学書院、東京、2001.
3. Mukaida, N., Ketlinsky, S.A., and Matsushima, K. : Interleukin-8 and other CXC chemokines. In *Cytokine Handbook* (Thomson, A. and Lotze, M.T. eds.), Academic Press, USA, (in press).

研究成果の概要

本研究は、肝臓での炎症の遷延化過程に関与している内因性因子を同定するために、種々のマウスの肝障害モデルの分子病理学的解析を行った。本研究を通して、以下の主な研究成果を得た。

1) *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)にて感作したインターフェロン (IFN) - γ 欠損マウスは、野生型のマウスに比較して、肝臓内での肉芽腫形成が軽度であった。引き続きリポ多糖類投与によって、野生型のマウスでは、血清腫瘍壊死因子 (TNF- α)・インターロイキン (IL) -12・IL-18濃度の著明な上昇と広範囲の肝細胞壊死が認められた。しかし、IFN- γ 欠損マウスでは、これらのサイトカイン濃度の上昇と肝細胞壊死が軽度であった。これらの結果は、IFN- γ がTNF- α ・IL-12・IL-18の産生を調節することで、この急性肝障害の成立に関与していることを示唆している (文献1)。

2) 750mg/kgのアセトアミノフェンをBALB/cマウスの腹腔内に投与すると、肝臓への好中球・単球の浸潤・iNOS発現増強・肝細胞のアポトーシスが認められ、広範囲な肝細胞壊死を伴う、致死率40%に達する重篤な肝障害が生じ、肝臓内でインターフェロン γ 発現の増強が認められた。インターフェロン γ 欠損マウスに同量のアセトアミノフェンを投与した時、好中球・単球浸潤・iNOS発現増強・肝細胞アポトーシスは著明に減弱していて、肝障害は軽度で致命的とはならなかった。以上から、アセトアミノフェンによる急性肝障害の発症にはインターフェロン γ が密接に関与していることが明らかになった (文献50)。

3) 四塩化炭素反復投与された野生型マウスの肝臓では、投与開始4週目からグリソン鞘に単球浸潤、8週目にグリソン鞘を中心にしたコラーゲン沈着が認められる。線維化に先立ち、肝臓内でのIL-6の発現が認められた。同様の処置を受けたIL-6欠損マウスでは、野生型マウスに比べて、肝臓でのコラーゲン沈着が軽度であるにも関わらず、血清アルブミン濃度が低下していた。これは、四塩化炭素投与された野生型マウスで認められた、transforming growth factor- β 1・hepatocyte growth factor発現の増強が、IL-6欠損マウスでは認められないことによることが示唆された (文献9)。

4) Dimethylnitrosamine (DMN)を野生型マウスに反復投与すると、投与開始1週間目から肝臓内でのTNF- α の発現亢進とともに、クッパー細胞の浸潤とコラーゲン沈着が認められた。DMNを同様に投与したTNFレセプターp55欠損マウスでの肝線維症は軽度であり、クッパー細胞・伊東細胞の集積も軽度であったことから、TNF- α はこれらの細胞の肝臓内への動員を制御することで、DMNによる肝線維症の発症に関与している可能性が示唆された (文献48)。

5) マウス結腸癌細胞株colon26を野生型のBALB/cマウスの脾臓内に投与すると、投与24日目で肉眼的な肝転移巣の形成を認めるとともに、肝臓内でのTNF- α の発現増強を認めた。TNFレセプターp55欠損マウスでは、野生型マウスで認められた肝類洞血管内皮上でのVCAM-1発現の増強が減弱するとともに、肝転移巣形成が著明に減弱していたことから、TNFが血管内皮上の接着分子の発現を制御することで、肝転移成立を制御している可能性が示唆された (文献55)。

6) ヒト肝癌組織では、ケモカイン・レセプターの一つであるCCR1が肝癌細胞に発現していた。CCR1のリガンドであるCCL3の発現は、肝癌組織内の肝癌細胞では認められたのに対して、肝癌細胞株では認められなかった。しかし、肝癌組織内ではインターロイキン1 (IL-1)の発現が認められ、IL-1によって肝細胞株がCCL3を産生することから、肝癌組織内で産生されるIL-1がautocrineあるいはparacrine的にCCL3の産生を誘導することが示唆された (文献63)。現在、CCR1ならびにCCL3欠損マウスに発癌物質を投与して、肝癌発症過程が野生型マウスと異なるか否かを検討中である。

1～5の肝臓疾患モデルの解析の結果、いわゆる炎症性サイトカインがこれらの疾患モデルの成立に重要な役割を果たしていることが明らかになった。現在、これらの炎症モデルの発症過程ならびに遷延化過程に関与している内因性因子を同定することを目的に、野生型マウスと遺伝子欠損マウスとの間での遺伝子ならびに蛋白発現パターンの差異を包括的に検索している。